

华劳动卫生职业病杂志,2012,30(1):61-63.

[14] 向阳,加藤智启. 补体片段 C3f、DRC3f 对皮肤成纤维细胞合成和分泌转化生长因子-β1 的调节作用[J]. 湖北民族学院学报(医学版),2007,24(1):10-13.

[15] 王剑. 乙型病毒性肝炎及相关疾病蛋白质组学及临床诊断的研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2009.

[16] 李曼. RC3f 及 eRF3b 在肝病发生发展中作用机制的初步研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2011.

[17] 员美娜,刘志鹏,王佳,等. 脱精氨酸补体 C3f 对刀豆蛋白 A 诱导的急性免疫性肝损伤的保护作用[J]. 河北医科大学学报,2014,35(12):1460-1461.

[18] 徐峥嵘. eRF3b 和 DRC3f 抑制 TGF-β1 诱导的肝纤维化及其机制的体外研[D]. 河北:河北医科大学,2015.

[19] Xin YN, Geng N, Lin ZH, et al. Serum complement C3f

and fibrinopeptide A are potential novel diagnostic biomarkers for non-alcoholic fatty liver disease: A study in Qingdao twins[J]. PLoS One, 2014, 9(9):1-11.

[20] 沈芳芳,李荣山,王利华,等. 糖尿病肾病维持性血透患者透析前后血清差异蛋白质组学研究[J]. 山西医科大学学报,2010,41(6):510-514.

[21] 朱德祥. 结直肠癌和肝转移血清蛋白诊断模型的优化和相关标志物的鉴定[D]. 上海:复旦大学,2013.

[22] Han MY, Liu Q, Yu JK, et al. Detection and significance of serum protein markers of small-cell lung cancer[J]. J Clin Lab Anal, 2008, 22(2):131-137.

(收稿日期:2016-03-07 修回日期:2016-05-18)

• 综 述 •

脂蛋白(a)-P 研究进展*

付晓艳¹, 李 莉²综述, 朱瑾宏², 何津春^{2△}审校

(1. 兰州大学第一临床医学院, 兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院医学检验中心, 兰州 730000)

关键词:脂蛋白(a); 脂蛋白(a)颗粒; 免疫固定电泳; 核磁共振光谱法
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 13. 029 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)13-1822-03

脂蛋白(a)[Lp(a)]是人体内一种特殊的大分子脂蛋白,血浆中 Lp(a)水平升高可增加患动脉粥样硬化(AS)的风险。长期以来,临床已经习惯使用 Lp(a)-C 或 Lp(a)-M 预测 Lp(a)相关 AS 风险的高低^[1-5]。但值得注意的是,致 AS 因子是 Lp(a)-P 而不是 Lp(a)-C 或 Lp(a)-M。最新研究表明,Lp(a)-P 最能代表 Lp(a)的真实水平,对 AS 的预测价值较 Lp(a)-C 或 Lp(a)-M 高。下面本文就 Lp(a)-P 的研究进展做一综述。

1 Lp(a)的结构

Lp(a)主要由低密度脂蛋白颗粒(由载脂蛋白 B100 和脂质组成)与载脂蛋白(a) [Apo(a)]通过二硫键连接组成^[4]。Apo(a)是高度糖基化的蛋白质,含有 1 个蛋白酶样结构域和 1 个 kringle 结构域,kringle 结构域中有 1 个 K5 和若干个 K4。Apo(a)中的 K4 有 10 种不同亚型(T1~T10),除 T2 的拷贝数从 3~43 个不等,其他 9 型均含有 1 个拷贝,所以 K4-2 型的重复数决定了 Apo(a)分子的大小,它是导致 Lp(a)相对分子质量个体间差异较大[(180~800)×10³ 不等]的主要原因。此外不同个体间乃至同一个体不同 Lp(a)-P 中所含胆固醇量的差异也是导致 Lp(a)分子量个体间差异的原因之一^[4-5]。

2 3 种 Lp(a)相关生物标志物

不同研究者发现,对 AS 预测价值较高的 Lp(a)相关生物标志物有 Lp(a)-M、Lp(a)-C 和 Lp(a)-P 3 种。其中 Lp(a)-M 是用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定载脂蛋白(a)质量[Apo(a)-mass]表示的,测定结果用 mg/L 表示;Lp(a)-C 是通过电泳法测定 Lp(a)-P 所携带的胆固醇,测定结果用 mmol/L 表示,也有文献将测定结果用 mg/L 表示^[6]; Lp(a)-P 是近年提

出的较新的生物标志物, Lp(a)-P 是通过免疫固定电泳法(IFE)或核磁共振波谱(NMRs)直接测定其在血浆中的浓度,测定结果用 nmol/L 表示^[4-6]。

3 Lp(a)颗粒测定研究进展

3.1 Lp(a)颗粒测定背景 Lp(a)-M 测定是最早使用的 Lp(a)动脉粥样硬化生物标志物,但早期免疫分析所用的抗体主要是针对 Apo(a)K4-2 型抗原表位,但该区域分子大小不一且抗体亲和力强弱不一导致 Lp(a)-M 测定准确性受到质疑。美国西雅图的华盛顿大学西北脂类研究实验室提出针对 Apo(a)K4-9 型抗原表位的 ELISA,虽然不受 Apo(a)分子大小异质性的影响,但只适用 ELISA,不适用于全自动生化分析仪的免疫比浊法^[7]。由于免疫学方法测定 Lp(a)-M 存在的困难,故研究者提出用测定 Lp(a)-C 代替 Lp(a)-M^[3,8],然而随着肥胖及代谢综合征发病率的上升,使得 Lp(a)-C 这一标志物相对其他标志物而言预测价值降低^[9]。

鉴于 Lp(a)-M 或 Lp(a)-C 测定存在缺陷,以及大量荟萃分析发现低密度脂蛋白颗粒(LDL-P)较低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)是更好地预测 AS 发生的生物标志物^[10-14]。研究者推断 Lp(a)-P 在预测 AS 发生的风险上优于 Lp(a)-M 或 Lp(a)-C^[2-6,8]。此后,研究发现,Lp(a)-P 测定不受其分子大小及其他脂蛋白的影响,可以代表 Lp(a)浓度的唯一特征,成为研究热点^[2,15-18]。

3.2 Lp(a)颗粒测定方法 关于脂蛋白颗粒的测定,研究较多的是高密度脂蛋白颗粒和 LDL-P,测定方法及应用日渐成熟。目前测定方法常用的有 3 种:超速离心法、IFE、

* 基金项目:国家“十五”重大科技专项(2002BA711A08-17);教育部科技基础平台建设(505015);甘肃省自然科学基金(1308RJZA218, 1302FKDA034)。
△ 通讯作者, E-mail: jinchunhe@163. com。

NMRs^[10]。文献中报道较多的是后两种^[4,11],现分别介绍如下。

3.2.1 IFE IFE 是一种用于分析样品中特异性抗原的技术,首先将蛋白质混合物在固相载体上进行区带电泳,再与特异性抗体反应,从而检出与抗体结合的相应抗原。Philip 等^[4]通过实验研究,建立了一种适用于临床常规检测 Lp(a)-P 的 [Lp(a)],此方法准确度高(CV<10%)、线性范围为 50~800 nmol/L、精密度较好且不受 Apo(a)分子大小的影响。该法首先将血清中的脂蛋白经琼脂糖凝胶电泳分离成不同区带,其次在含 Apo(a)的脂蛋白区带中 Apo(a)可与抗 Apo(a)抗体结合,用酸性紫染色可见到脂蛋白固定条带,清洗后使用比浊法测定 Apo(a)的总量[包括 Lp(a)、VLDL、IDL 和 LDL 中的 Apo(a)],根据公式^[4]可通过 Lp(a)中 Apo(a)浓度计算出 Lp(a)-P 的浓度。计算公式如下: Lp(a)-P(nmol/L)=Apo(a)总量×Lp(a)条带占总面积百分比×18.52,其中 18.52=Lp(a)中 Apo(a)浓度×10/(apo-B 相对分子质量×10⁶)。

3.2.2 NMRs NMRs 是基于电磁波照射待测物质,使原子核发生能级跃迁,产生一定核磁共振信号,进而得到 NMRs。NMRs 之所以可应用于 Lp(a)-P 测定,主要是利用了不同大小的 Lp(a)-P 甲基基团天然质子 NMR 特征。Lp(a)的磁学特性使不同大小颗粒中的脂质发出不同的频率和形状信号^[11]。对照已知的每一类颗粒的甲基信号频率和特征,记录血浆中待测脂蛋白颗粒所产生的信号,可以通过数学计算的方法计算出不同脂蛋白的数目和脂蛋白颗粒的大小。NMRs 测定脂蛋白的最大优势是该法测定整个颗粒而不仅是某一化学成分的浓度。由于每个 Lp(a)-P 中的 Lp(a)-C 不是恒量,个体间差异较大,因此 Lp(a)-C 不能反映相应冠心病危险等级^[12]。而 NMRs 不受个体间差异的影响,即一定浓度的脂蛋白亚类总是产生同等大小的甲基化信号。但大小接近的脂蛋白颗粒,其甲基信号频率和特征的变化在波谱上不易显现出来,因此这些脂蛋白颗粒仍是代表一组脂蛋白,这点值得注意。

3.3 Lp(a)-P 与 Lp(a)-M、Lp(a)-C 相比的优势 多项研究表明,LDL-P 浓度在预测 AS 危险性方面比 LDL-C 更敏感,因此理论上推测 Lp(a)-P 预测 AS 的灵敏度比 Lp(a)-C 更高^[10-14]。目前这一推测已经得到证实^[2,16-18]。早期 Sniderman 等^[19]通过 Meta 分析显示,当 Lp(a)-M 处于临界值时,不同 Lp(a)-P 浓度的患者发生心脑血管事件的风险不同;2012 年 Matthew 等通过对 144 例 AS 一级、二级预防者研究发现,Lp(a)-P 与 Lp(a)-C 的不一致性高达 23%,近年来该结论也被其他研究者证实^[13-15];2014 年 Hopwell 等^[15]通过对 995 例冠心病患者研究发现,Lp(a)-P 比 Lp(a)-M 和 Lp(a)-C 测定更能预测冠心病的风险;研究还发现小分子 Apo(a)患者具有更高的 Lp(a)-P 浓度,更易导致 AS。

4 结语与展望

Lp(a)作为 AS 的独立危险因素已得到公认,但目前关于 Lp(a)仍有许多未解决的问题,例如,其代谢机制尚不清楚,其测定单位和度量标准在不同的实验室之间不一致等。一些研究者常混淆 Lp(a)的 3 种生物标志物,因此有必要使更多临床医生了解 Lp(a)测定的意义^[5,16]。未来需要确定一种能够真实反映 Lp(a)水平且易于检测的生物标志物,目前最新研究认为 LP(a)-P 就是这样一种生物标志物。学者们一致认为,现在及未来就是要通过国际间的合作在不同人群中研究 LP(a)-P 引起的 AS 风险,从而为 Lp(a)-P 是目前发现的最好的 AS 风险标志物这一观点提供支持。

今后 Lp(a)-P 研究方向可能出自以下几方面:(1)选择 Lp(a)-P 正常,但 Lp(a)-M 和 Lp(a)-C 升高或降低的,或 Lp(a)-P 升高或降低而 Lp(a)-M 和 Lp(a)-C 在正常参考范围内的标本来比较 3 种生物标记,证实三者在预测 AS 发生的优缺点;(2)应用高场多维 NMRs 优化 LP(a)-P 测定方法,使其更加适合常规临床检测;(3)对于高 Lp(a)-P 的动物模型,寻找新型的治疗手段降低血浆 Lp(a)-P;(3)在临床上验证 Lp(a)-P 预测 AS 发病率的临床价值及治疗手段,确定 AS 的医学决定水平,以便制订干预人群和治疗目标,在一级、二级预防中都有重要意义。

综上所述,Lp(a)-P 对 AS 的发生具有良好的预测价值,相信今后在基础和临床的不同层面上会有更广泛的研究和应用。

参考文献

- [1] Malaguarnera M, Vacante M, Russo C, et al. Lipoprotein (a) in cardiovascular diseases[J]. Biomed Res Int, 2012, 2013(1):650989.
- [2] Kiechl S, Willeit J. The mysteries of lipoprotein(a) and cardiovascular disease revisited[J]. J Am Coll Cardiol, 2010, 55(19):2168-2170.
- [3] Brown WV, Ballantyne CM, Jones PH, et al. Management of Lp(a)[J]. J Clin Lipidol, 2010, 4(4):240-247.
- [4] Philip A, Erin G, William S, et al. Validation of a lipoprotein (a) particle concentration assay by quantitative lipoprotein immunofixation electrophoresis[J]. Clinica Chimica Acta, 2015, 15(439):219-224.
- [5] Joseph P, Philip A, Guadagno MS, et al. Lipoprotein(a) mass: A massively misunderstood metric[J]. J Clin Lipidol, 2014, 13(8):550-553.
- [6] Konerman M, Kulkarni K, Toth PP, et al. Lipoprotein(a) particle concentration and lipoprotein(a) cholesterol assays yield discordant classification of patients into four physiologically discrete groups[J]. J Clin Lipidol, 2012, 6(4):368-373.
- [7] Lamon-Fava S, Marcovina SM, Albers JJ, et al. Lipoprotein(a) levels, apo(a) isoform size, and coronary heart disease risk in the Framingham Offspring Study[J]. J Lipid Res, 2011, 52(6):1181-1187.
- [8] McConnell JP, Guadagno PA, Dayspring TD, et al. Lipoprotein(a) mass: a massively misunderstood metric[J]. J Clin Lipidol, 2014, 8(6):550-553.
- [9] Davidson MH, Ballantyne CM, Jacobson TA, et al. Clinical utility of inflammatory markers and advanced lipoprotein testing: advice from an expert panel of lipid specialists[J]. J Clin Lipidol, 2011, 5(5):338-367.
- [10] Paul N, James V. A comparative study of four independent methods to measure LDL particle concentration[J]. Atherosclerosis, 2015(243):99-106.
- [11] Otvos JD, Mora S, Shalaurouva I, et al. Clinical implications of discordance between low-density lipoprotein cholesterol and particle number[J]. J Clin Lipidol, 2011, 5(2):105-113.
- [12] Stephen A, Thomas D. Low-density lipoprotein particle number is associated with insulin resistance in clinical